oncología



Microfotografía electrónica de barrido de una célula maligna, durante el proceso invasor. Las coloraciones de la foto son artificiales.

Director Científico:
Dr. Omar Althabe

Producción y realización gráfica:
Base de Datos S.A.
Cerrito 1136 - 5º piso
Tel.: 813-6891
Capital Federal

Base de Datos S.A. es responsable de su publicación.

Publicación periódica científico-cultural, distribuida exclusiva y gratuitamente al cuerpo médico.
Sin valor comercial.
Las opiniones expresadas en sus páginas son las de los autores y no involucran necesariamente el pensamiento del editor y de la dirección de la revista.

Impreso en
Impresora Americana S.A.I.C.

AÑO 3 - Nº 26

oncología

Hacia una cura para la enfermedad de Hodgkin

Mientras en el terreno clínico se ponen a punto las mejores combinaciones quimioterapéuticas para el manejo de la enfermedad avanzada, la investigación básica aporta nuevas claves acerca de los mecanismos de diseminación de los linfomas.

Al igual que los linfomas no Hodgkin, la enfermedad de Hodgkin es el resultado de alteraciones en el tejido linfoide de los ganglios o cadenas ganglionares.

Uno de los rasgos morfológicos más relevantes es la presencia de células gigantes neoplásicas, denominadas de Reed-Sternberg. Estas suelen expresar antígenos propios de las células linfoides —CD30, CD25, HLADR y CD71— y en forma habitual se mezclan con el infiltrado inflamatorio. Las células de Reed-Sternberg, además, constituyen un signo histológico característico, que diferencia a esta enfermedad de los linfomas no Hodgkin.

La utilización de quimioterapia en altas dosis, combinada con el trasplante autólogo, reduciría la exposición de la médula ósea y muchos efectos colaterales a largo plazo.

La enfermedad de Hodgkin es frecuente en adultos jóvenes, con una edad media al momento del diagnóstico cercana a los treinta años. Lamentablemente su etiología continúa siendo desconocida, si bien se hallaron pacientes con cariotipos anormales y se investigaron muchos agentes infecciosos, en especial retrovirus.

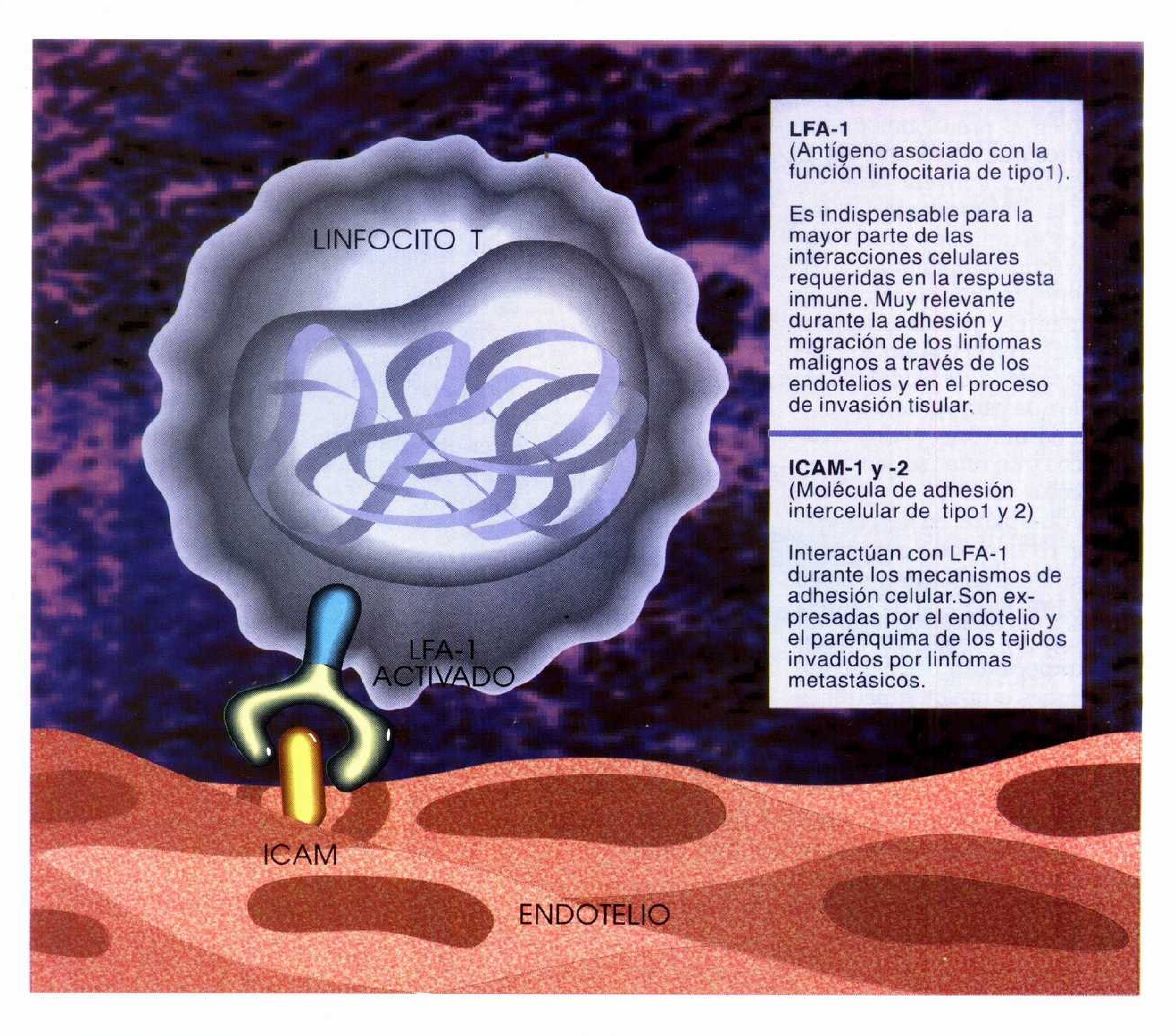
En contraste con los logros escasos obtenidos en la búsqueda de un hipotético agente causal, las últimas dos décadas fueron muy prolíficas en materia terapéutica. En la actualidad se considera que la radioterapia es curativa para los casos de enfermedad de Hodgkin localizada y la quimioterapia puede serlo también en la enfermedad avanzada.

Elección del tratamiento más adecuado

Sin lugar a dudas el factor que determina la forma de tratamiento es el estadio en que se encuentra la enfermedad. La radioterapia es de elección en los pacientes en estadios I o II, mientras que aquellos con enfermedad avanzada (estadios III o IV) deben someterse a alguno de los regímenes reconocidos de quimioterapia combinada.

Sin embargo, existen algunas excepciones a esta regla que deben tenerse en cuenta. En primer lugar, en los estadios I y II con compromiso masivo del mediastino es aconsejable una terapia combina-

Al modular la función de las moléculas de adhesión, la toxina pertusis limitaría la diseminación de los linfomas.



Moléculas de adhesión celular (CAM, cellular adhesion molecules*) de la familia de las integrinas que intervienen en la adhesión linfocitaria y podrían participar en los mecanismos de metástasis de los linfomas.*

En materia de tratamiento de la enfermedad de Hodgkin, las últimas dos décadas fueron muy prolíficas.

da. Por otra parte, en estudios recientes se demostró una eficacia comparable de la quimioterapia y la radioterapia en la enfermedad localizada. De todas maneras, debido al grado preliminar de estas observaciones es aventurado reemplazar a la radioterapia en el tratamiento de los estadios I y II, salvo en casos de estadio IIB con alto riesgo de recurrencia.

En la enfermedad avanzada, la combinación CVPP (clorambucilo, vinblastina, procarbazina y prednisona) asoma como una alternativa de equivalente efecto terapéutico y menor toxicidad que la combinación clásica MOPP (mecloretamina, vincristina, procarbazina y prednisona). Según DeVita, del *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center* (Nueva York), llama la atención que, no obstante las virtudes de la combinación CVPP, en general no forma parte de los estudios controlados, sobre todo porque los fenómenos adversos pueden afectar la supervivencia y la calidad de vida.

Por último, algunos resultados de estudios no controlados sugerirían un beneficio para los pacientes en estadio III o IV —en especial mayor supervivencia libre de enfermedad— mediante el agregado de radioterapia en dosis bajas en los sitios afectados.

Trasplante autólogo de médula ósea

Si bien el pronóstico de los pacientes que no responden al tratamiento convencional es malo, el advenimiento de los factores estimulantes de colonias (*colony-stimulating factors*) permitió aumentar las dosis de los agentes quimioterápicos empleados en el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin. Es posible que esta ventaja se traduzca en mayores éxitos terapéuticos y en una reducción de los efectos tóxicos.

Por otra parte, en los pacientes con recurrencias comenzó a utilizarse el trasplante autólogo de médula ósea o el de células troncales de sangre periférica, con el propósito de permitir combinaciones quimioterapéuticas más intensivas.

La utilización de agentes químicos en altas dosis combinada con el trasplante autólogo reduciría la exposición de la médula ósea y muchos efectos colaterales a largo plazo.

Hughes y col., del *Anderson Cancer Center* (Houston), emplearon un programa que incluye la combinación MVT (mitoxantrona, etopósido y tiotepa), seguida de trasplante de médula ósea o sangre periférica, para los pacientes que desarrollaron recurrencias luego de un primer intento con quimioterapia y trasplante autólogo.

Con el empleo de este protocolo el riesgo estimado de mortalidad temprana se ubicó en 20% y 9 de un total de 15 pacientes alcanzaron remisiones totales o parciales, con una progresión media cercana a los 12 meses. Aunque los resultados fueron modestos, este régimen de segunda línea con MVT podría representar una alternativa para los pacientes con recaídas.

La transformación neoplásica detiene la diferenciación celular en un determinado estadio de la maduración y "congela" un fenotipo migratorio.

Estadios de la enfermedad de Hodgkin según el sistema de clasificación Ann Arbor

I I_E	Afectación de una única región ganglionar; o un único sitio extralinfático.
II II_E	Afectación de dos o más regiones ganglionares al mismo lado del diafragma; o una o más regiones ganglionares y un sitio extralinfático.
III III_E III_S III_{SE}	Afectación de regiones ganglionares a ambos lados del diafragma; con un sitio extralinfático; el bazo; o ambos.
IV	Afectación difusa o diseminada de uno o más órganos extralinfáticos, con compromiso de regiones ganglionares o no.

Todos los estadios pueden subclasificarse en:

A	Asintomático
S	Sintomático (fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso)

Mecanismos de diseminación en los linfomas

Una de las principales características de las células tumorales con capacidad de originar metástasis es que pueden migrar a través de diferentes tejidos y diseminarse por el organismo. Es lógico pensar que esta cualidad es patológica, puesto que no la posee la estirpe de células normales a partir de las cuales se originó el tumor. Sin embargo, en el caso de los linfomas la situación es diferente. En varios estadios de la maduración normal de los linfocitos T, la migración a través de los tejidos y el traslado desde un compartimiento hacia otro forman parte de una coreografía habitual e indispensable para el funcionamiento del sistema inmune. A modo de ejemplo, basta recordar que los precursores de las células T viajan desde la médula ósea hasta el timo y las células T maduras lo hacen desde el timo a los ganglios linfáticos, la piel o las paredes intestinales.

Combinaciones quimioterapéuticas efectivas en el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin avanzada			
MOPP	**ABVD**	**CVPP**	**MOPP-ABV (híbrido)**
Mecloretamina	Doxorrubicina	Clorambucilo	Mecloretamina
Vincristina	Bleomicina	Vinblastina	Vincristina
Procarbazina	Vinblastina	Procarbazina	Procarbazina
Prednisona	Dacarbazina	Prednisona	Prednisona Doxorrubicina Bleomicina Vinblastina

En general se acepta que en las estirpes linfocitarias la transformación neoplásica detiene la diferenciación celular en un determinado estadio de la maduración y "congela" el fenotipo de migración celular. De esta manera, el patrón de

En la enfermedad de Hodgkin el factor que determina la forma de tratamiento es el estadio en que se encuentra la enfermedad.

diseminación metastásica de cada linfoma estará determinado por el característico de ese estadio celular.

Moléculas que gobiernan la adhesión celular

La adhesión de los linfocitos a distintos tipos celulares y sustratos es mediada por las moléculas de adhesión celular (*cellular adhesion molecules*, CAM), muchas de las cuales pertenecen a la familia de las integrinas. Por lo tanto, el patrón de migración depende de estas interacciones moleculares.

La integrina LFA-1 (antígeno asociado con la función leucocitaria de tipo 1) interviene en muchas funciones de los linfocitos y la mayor parte de las reacciones celulares necesarias para el desarrollo de la respuesta inmune. Además, se demostró que los hibridomas de linfocitos T que carecen de esta integrina exhiben *in vitro* una reducida capacidad para invadir y originar metástasis en sistemas experimentales.

El LFA-1 interactúa con las moléculas ICAM-1 e ICAM-2 (moléculas de adhesión intercelular de tipo 1 y 2), que suelen expresar las células endoteliales y los tejidos que son invadidos con mayor frecuencia por las células linfomatosas. En apariencia la presencia de ICAM-2 en los órganos blanco sería la característica más importante en la formación de metástasis de linfomas que expresan LFA-1.

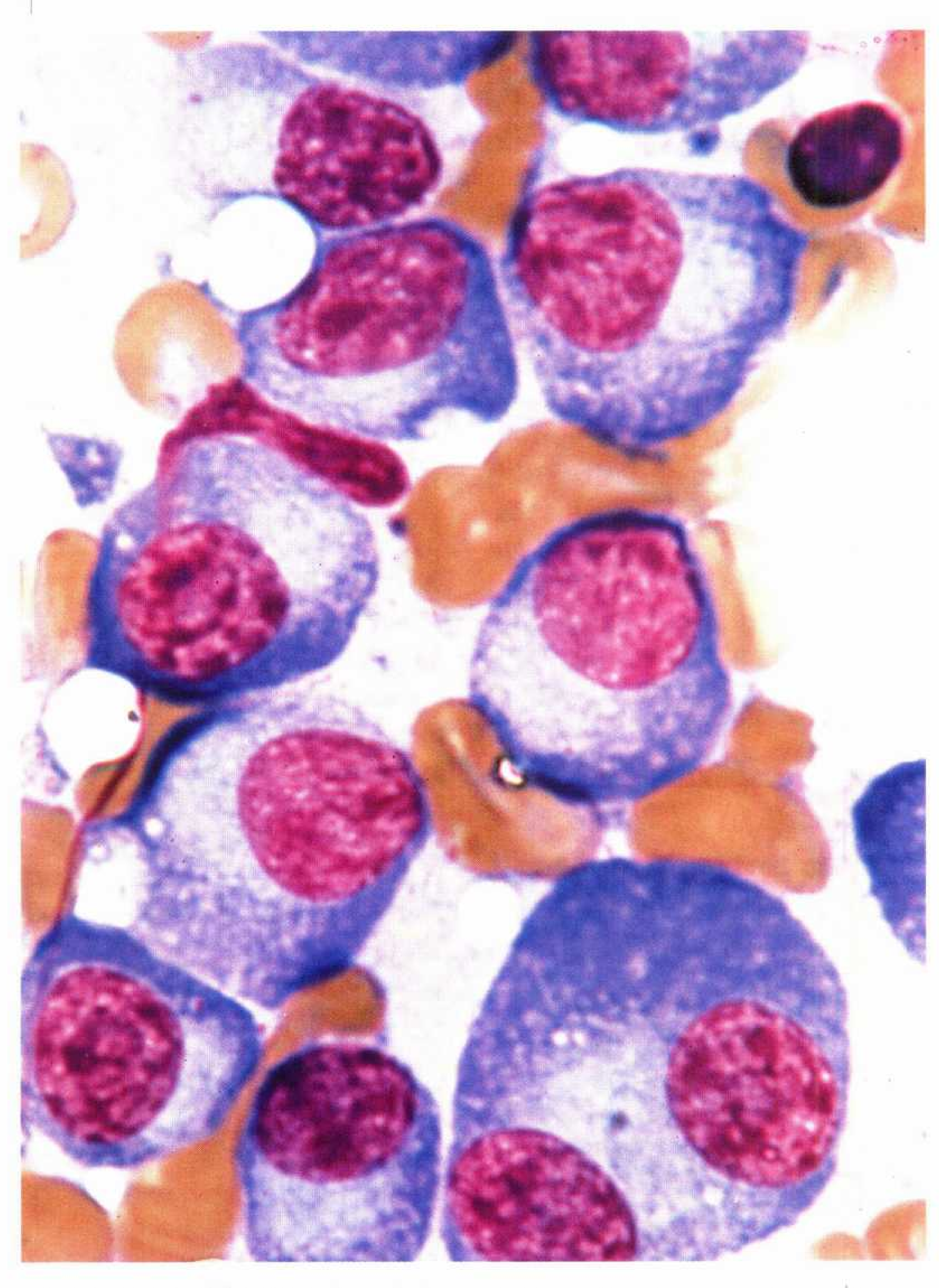
La toxina pertusis inhibe la migración linfocitaria y la invasión de células de linfoma en modelos *in vitro*. Esta sorprendente acción estaría explicada por los efectos inhibitorios de la toxina sobre la activación de LFA-1. Se piensa que el bloqueo de la activación de LFA-1 disminuye su afinidad por ICAM-1 e ICAM-2, reduce la adhesión de las células de linfoma y de este modo se limita la capacidad de invasión tisular.

En la actualidad los conocimientos acerca de las moléculas de adhesión que intervienen en las metástasis de los linfomas resultan todavía limitados y algo fragmentarios. De todas maneras, hallazgos como el de la toxina pertusis ponen de manifiesto la posibilidad de modular la agresividad de los linfomas mediante agentes que regulen la función de las moléculas de adhesión.

Referencias
Seminars in Cancer Biology
4(5): 285-292, 1993.
Proceedings of the American Association for Cancer Research
34: 189, 1993.
The New England Journal of Medicine
328: 560-565, 1993.
326: 678-687, 1992.

Expectativas en torno del mieloma múltiple

Los tratamientos cada vez son mejores y no se alcanza una meseta en la respuesta de los pacientes. ¿El mieloma múltiple será considerado curable en poco tiempo?



Fotografía de un aspirado de médula ósea de un paciente con mieloma múltiple.

Las células sanguíneas tienen un precursor común, la célula troncal *(stem cell)*, que posee una ilimitada potencia para generar a todas las colonias circulantes. Durante los pasos iniciales de la maduración y diferenciación, esta célula pluripotente origina dos troncos: el linfoide y el mieloide. Este último, a su vez, se divide en distintas colonias a partir de las cuales se generan eritrocitos, plaquetas, granulocitos, monocitos y eosinófilos.

Las leucemias y las enfermedades mieloproliferativas suelen tener su punto de partida en el fracaso de los precursores hematopoyéticos para responder a las señales normales que regulan su crecimiento y diferenciación. El sistema de renovación de las células sanguíneas se altera y surge una población clonal de células hematopoyéticas transformadas, que ocupa en forma paulatina la médula ósea y otros órganos de la economía.

El mieloma múltiple es el síndrome más importante y frecuente entre las discrasias de las células plasmáticas. Se caracteriza por la aparición de varios nódulos neoplásicos de células plasmáticas, distribuidos por todo el sistema esquelético y —en algunos casos— por los tejidos blandos. El alto grado de diferenciación de las células del mieloma múltiple

posibilita que secreten inmunoglobulinas, al igual que las células plasmáticas normales. La inmunoglobulina monoclonal detectada en la sangre de los pacientes con mieloma múltiple recibe el nombre genérico de componente M, que puede evidenciarse mediante el análisis electroforético.

Los logros obtenidos con las nuevas modalidades de tratamiento hacen suponer que el mieloma múltiple podría pasar a ser, con el transcurso del tiempo, una enfermedad curable. Aún no se habría llegado a una meseta en la respuesta de los pacientes a esas terapéuticas y el porcentaje de remisiones completas está en constante aumento.

Los primeros protocolos con bolos intravenosos lentos de melfalán (140 mg/m^2) produjeron casi 80% de remisiones, entre parciales y completas. Lamentablemente, la toxicidad de este fármaco resultó ser muy elevada y las remisiones fueron muy breves. Más tarde quedó claro que la combinación de melfalán con la irradiación total del cuerpo mejoraba la respuesta.

El verapamilo, al igual que otros bloqueantes de los canales del calcio, aumenta la efectividad de las drogas quimioterapéuticas.

Por otra parte, la utilización del interferón-α2b en combinación con melfalán y prednisona, y en especial como droga de mantenimiento luego de la inducción con quimioterapia, ha dado como resultado una importante mejora en la supervivencia. Además el interferón colaboraría en la erradicación de los focos residuales después del trasplante de médula ósea.

En los casos de mieloma múltiple refractario, la resistencia al tratamiento quimioterápico se asocia con la expresión del gen MDR-1 (*multidrug resistance*). El producto de este gen es una glucoproteína de membrana denominada PgP, que disminuye las concentraciones intracelulares de agentes citotóxicos. De esta forma, como consecuencia del bombeo constante que efectúa la PgP hacia el medio extracelular, con consumo de energía, en las células resistentes no se acumulan drogas como la doxorrubicina y la vincristina. Sin embargo, la resistencia al tratamiento con doxorrubicina y vincristina puede evitarse mediante el empleo de ciclosporina. Este agente —al igual que el verapamilo y otros bloqueantes de los canales del calcio— puede modular las funciones de la PgP y de este modo posibilitar la eliminación de las células resistentes.

Entre las nuevas esperanzas de cura para los pacientes con mieloma múltiple deben citarse nuevos protocolos con agentes químicos distintos de los tradicionales, desarrollados con el propósito de perfilar alternativas terapéuticas para los mielomas recurrentes o los resistentes a las drogas utilizadas en la inducción.

El menogaril fue empleado en dosis intravenosas de 160 mg/m^2 durante 28 días, en pacientes con recaídas, con efectos muy limitados. Con mejores resultados, un grupo noruego ensayó un protocolo combinado, consistente en mitoxantrona, vincristina y prednisona, diseñado especialmente para los casos de mieloma múltiple resistente. Se encuentran en evaluación otros agentes más heterodoxos, como los bloqueantes de los canales del calcio —mencionados antes— y los anticuerpos anti-IL-6 (interleucina 6).

Por último debe mencionarse el autotrasplante con los métodos de rescate de la médula ósea, una técnica que perfeccionada podría constituirse en la alternativa más promisoria.

La resistencia de las células del mieloma al tratamiento quimioterápico depende de la expresión del gen MDR-1.

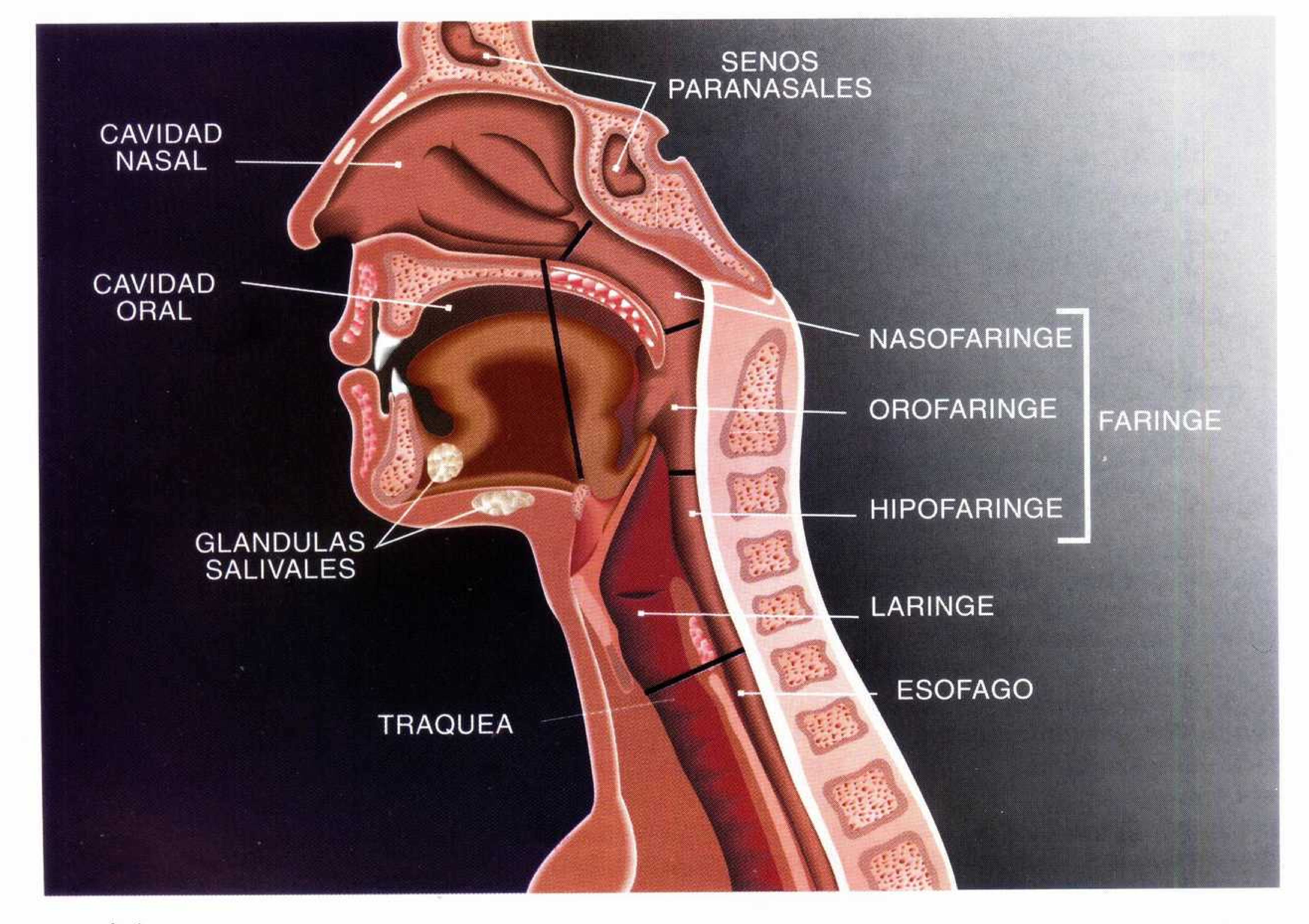
Referencias
The Lancet
340: 255-259, 1992.
Cancer Research
52: 1445-1450, 1992.
Nouvelle Revue Française D'Hematologie
33: 521-523, 1992.
The Journal of Internal Medicine
231: 133-137, 449-452, 1992.
Investigational New Drugs
10: 35-37, 1992.
Annals of Hematology
64: 123-127, 1992.
Bulletin du Cancer
79: 231-242, 1992.
European Journal of Haematology
48: 70-74, 1992.
European Journal of Cancer
27(s4): s45-s48, 1991.

Quimioprevención en el cáncer de cabeza y cuello

Durante los últimos diez años se registraron progresos significativos en el manejo de las neoplasias del tracto aerodigestivo superior. Sin embargo, los avances más espectaculares dependerían del empleo de estrategias de quimioprevención.

En una definición restringida a las neoplasias más frecuentes y de mayor relevancia, el cáncer de cabeza y cuello comprende a los carcinomas epidermoides de la cavidad oral, faringe y laringe. Esta definición permite analizar en conjunto a un grupo de tumores que tienen en común no sólo los mismos factores de riesgo, sino también características biológicas que repercuten en los enfoques preventivos y terapéuticos. Se conoce que el consumo de tabaco y

Los cánceres de cabeza y cuello comprenden a los carcinomas epidermoides de la cavidad oral, faringe y laringe. Junto a las neoplasias de esófago y pulmón integran un grupo de tumores con mecanismos carcinogénicos semejantes y ciertas similitudes en su comportamiento biológico.



Factores de riesgo para el desarrollo de cáncer de cabeza y cuello

❑ Alcohol

❑ Tabaco

❑ Factores ocupacionales
(refinamiento del níquel, industria textil, trabajadores de la madera)

❑ Factores dietéticos
(bajo consumo de frutas y vegetales)

❑ Virus
(virus de Epstein-Barr en el cáncer nasofaríngeo)

❑ Predisposición genética (?)
(fragilidad cromosómica inducida por mutágenos)

Las deleciones en los cromosomas 3p y 18q, y las mutaciones en el gen supresor tumoral p53 son frecuentes en los tumores de cabeza y cuello.

alcohol se relaciona con el desarrollo de cáncer de cabeza y cuello, y que ambos factores se potencian. Por otra parte, ciertas ocupaciones también implican un riesgo de importancia, como las vinculadas con el refinamiento del níquel, la industria textil y la maderera.

Algunos estudios epidemiológicos sugirieron la intervención de factores dietéticos. A la posible protección brindada por los carotenoides podrían sumarse las evidencias de que el consumo de frutas y vegetales se asocia de manera inversa con la incidencia de tumores de cabeza y cuello.

El virus de Epstein-Barr también podría incluirse en la lista de factores de riesgo. En el norte africano y en ciertas regiones de Asia, la infección por este virus se asocia en forma inequívoca con el cáncer nasofaríngeo.

El territorio de cancerización

La leucoplasia es una lesión premaligna de la cavidad oral que puede indicar la exposición a agentes carcinogénicos como el tabaco. Su progresión hacia el cáncer se relaciona con el grado de anormalidad histológica.

Las mucosas que revisten los órganos del tracto aerodigestivo superior —al igual que el esófago y los pulmones— están expuestas a los mismos carcinógenos. El concepto de que ante la agresión de un agente carcinogénico todo el linaje celular de un tracto soporta al mismo tiempo los daños premalignos, generó otras perspectivas para la prevención y el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello. El concepto supone que múltiples sitios estarían expuestos en forma secuencial o simultánea al desarrollo de lesiones displásicas; ello explicaría la alta incidencia de subsecuentes cánceres primarios en los pacientes tratados por tumores de cabeza y cuello, pulmón o esófago.

La totalidad del *territorio de cancerización* puede soportar anormalidades de distribución multifocal, con un pasaje paulatino hacia la malignidad hasta que, finalmente, el cáncer se instala en un sitio determinado. En el nivel molecular, la información disponible indica que el comienzo del desarrollo tumoral depende de cambios genéticos múltiples y que la progresión del proceso es acumulativa.

En neoplasias malignas de cabeza y cuello se comprobaron deleciones en los cromosomas 3p y 18q, como también mutaciones en el gen supresor tumoral p53. Además, suelen ser frecuentes las amplificaciones del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF, *epidermal growth factor*) y de los oncogenes *int*-2 y *bcl*-1, entre otros.

Waun Ki Hong, del *Anderson Cancer Center* de la Universidad de Texas, especialista en cáncer de cabeza y cuello, considera que en la última década se produjeron avances significativos en el manejo de la enfermedad.

La calidad de vida se afecta en gran medida como consecuencia de la laringectomía y no siempre se acompaña de una mayor supervivencia.

Sistema de estadificación para el cáncer de cabeza y cuello, de acuerdo con las normas del *American Joint Committe on Cancer Staging for Head and Neck Cancer.*

Sistema TNM

TX	Tumor primario no evaluable
T0	Sin evidencias de tumor primario
Tis	Carcinoma *in situ*
T1	Tumor hasta 2 cm
T2	Tumor de 2 cm hasta 4 cm
T3	Tumor de más de 4 cm
T4	El tumor invade estructuras adyacentes
NX	Ganglios linfáticos regionales no evaluables
N0	Libre de metástasis a ganglios regionales
N1	Metástasis a un único ganglio homolateral (hasta 3 cm)
N2a	Metástasis a un único glanglio homolateral (entre 3 cm y 6 cm)
N2b	Metástasis a múltiples ganglios homolaterales (6 cm o menos)
N2c	Metástasis a ganglios contralaterales (6 cm o menos)
N3	Metástasis ganglionares mayores de 6 cm
MX	Metástasis a distancia no evaluables
M0	Sin evidencia de metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia

Estadio clínico

0	Tis, N0, M0
I	T1, N0, M0
II	T2, N0, M0
III	T3, N0, M0 T1-3, N1, M0
IV	T4, N0-1, M0 Cualquier T, N2-3, M0 Cualquier T y N, M1

A partir del perfeccionamiento de los protocolos de tratamiento, mediante el empleo combinado de cirugía, quimioterapia y radioterapia, más el agregado de los nuevos criterios de preservación de los órganos afectados, las expectativas en torno de la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes se ubican en un nivel más optimista.

Pero sin lugar a dudas el procedimiento más promisorio que irrumpió en los últimos años es la quimioprevención, que puede definirse como la administración de fármacos para bloquear el proceso de carcinogénesis y prevenir el desarrollo de neoplasias invasoras.

Las estrategias quimiopreventivas parten del concepto de territorio de cancerización y su principal objetivo es disminuir la incidencia de otros cánceres, en los pacientes que fueron tratados con éxito mediante cirugía o terapia radiante.

Sin embargo, la quimioprevención podría extenderse al tratamiento de los pacientes con leucoplasias —fumadores o alcohólicos en su mayoría— que aún no

han desarrollado cáncer de cabeza y cuello.

Los retinoides y los carotenoides poseen la particular propiedad de modular el crecimiento y diferenciación epitelial. Por otra parte, muchos retinoides naturales y sintéticos pueden revertir las lesiones leucoplásicas, con resultados que oscilan entre 50 y 100% de eficacia. Entre los retinoides se encuentra la isotretinoína (ácido 13-*cis*-retinoico), que es el agente quimiopreventivo del cáncer de cabeza y cuello más estudiado.

Los resultados de los primeros protocolos controlados, con dosis altas de isotretinoína durante períodos de tres meses, demostraron una efectividad asombrosa. Lamentablemente, la toxicidad del tratamiento fue alta —incluyó dermatitis, conjuntivitis e hipertrigliceridemia— y las lesiones leucoplásicas progresaron al finalizar la administración del retinoide.

Lippman y col. condujeron un protocolo quimiopreventivo, dividido en dos fases, sobre setenta pacientes con leucoplasias orales. Durante los primeros tres meses todos recibieron un tratamiento de inducción con dosis altas de isotretinoína (1,5 mg/kg/día). Luego fueron divididos en dos grupos que, durante nueve meses, recibieron una terapia de mantenimiento con β-caroteno (30 mg/día) o isotretinoína (0,5 mg/kg/día), respectivamente.

El concepto de *territorio de cancerización* explicaría la alta incidencia de cánceres primarios subsecuentes a tratamientos antineoplásicos exitosos.

Si bien la toxicidad de la isotretinoína fue algo superior —con signos que remedaron a la hipervitaminosis A—, en la terapia de mantenimiento demostró una mayor actividad en el control de las leucoplasias orales. Más de 90% de los pacientes manifestaron lesiones estables que no progresaron a carcinomas, respecto de un escaso 45% en el grupo tratado con β-caroteno.

El tratamiento quirúrgico radical de los cánceres de cabeza y cuello acarrea un drástico deterioro de la calidad de vida, más allá del impacto en la supervivencia del paciente. La naturaleza de los órganos alojados en la cabeza y el cuello, y la importancia en el desempeño de las actividades diarias del ser humano transforman a cualquier intervención quirúrgica en un dilema, que debe contemplar aspectos médicos, estéticos y psicológicos.

La respuesta total a la inducción con quimioterapia puede alcanzar tasas superiores a 80%. Además se obtuvieron resultados promisorios mediante el empleo de protocolos que incluyen cisplatino y fluorouracilo, con tasas de respuesta completa superiores a 60%. De esta manera, la necesidad de una cirugía radical podría disminuir en función de una respuesta adecuada a la quimioterapia o, eventualmente, a la terapia radiante.

En muchos pacientes con cáncer de cabeza y cuello la preservación de la laringe es el principal objetivo, para no comprometer su calidad de vida. En los pacientes que responden a la quimioterapia podría omitirse la laringectomía sin que por ello disminuya la supervivencia. En un estudio en gran escala, en más de 60% de los pacientes pudo preservarse la laringe administrando quimioterapia como inducción, seguida de radioterapia. La supervivencia no mostró diferencias significativas respecto de los pacientes que fueron tratados con laringectomía y terapia radiante.

La isotretinoína o ácido 13-*cis*-retinoico bloquea la progresión de las leucoplasias orales hacia carcinomas invasores.

Para finalizar debe remarcarse que, si bien los nuevos esquemas terapéuticos permiten preservar un órgano vital para la vida social como la laringe y reducir la incidencia de metástasis a distancia, no se han obtenido mejoras sustanciales en la supervivencia global de los pacientes con cáncer de cabeza y cuello. Es posible que éste pase a ser el objetivo principal en los próximos años.

Referencias

The New England Journal of Medicine
328: 15-20, 184-194, 1993.

Proceedings of the American Association for Cancer Research
34: 560-561, 1993.

Medical Mag
4 (Esp.): 17-21, 1993.

Nuevas pautas de tratamiento para la mononucleosis infecciosa

La mononucleosis infecciosa es una enfermedad viral muy frecuente; pese a conocerse muchos aspectos concernientes a su etiología, poco es lo que se ha avanzado en cuanto al tratamiento.

La enfermedad asociada típicamente con el virus de Epstein-Barr (EBV) es la mononucleosis infecciosa (MI). La descripción y la epidemiología de esta enfermedad precedió en algunas décadas al reconocimiento del EBV como agente causal predominante; los citomegalovirus, el HIV y el *Toxoplasma gondii* son causas infrecuentes de enfermedades similares a la mononucleosis.

La MI se presenta en todas las edades pero sobre todo en los adolescentes y adultos jóvenes. En la actualidad se sabe que esta distribución etaria está determinada, en última instancia, por la mayor capacidad de los niños para resolver una infección primaria por EBV con poca o ninguna sintomatología. Pese a que los adultos no manejan al virus tan bien como los niños, alrededor de los 25 años de edad la mayoría son seropositivos y no susceptibles a la reinfección.

En los países desarrollados, las infecciones por EBV se desarrollan en etapas tempranas de la vida. Casi la totalidad de la población ciudadana se infecta antes de la adolescencia, de manera que las formas sintomáticas son poco comunes.

Las infecciones similares a la mononucleosis pueden ocurrir más de una vez, pero estos cuadros en general no son consecuencia de un resurgimiento de la actividad viral. Las reactivaciones aparecen en forma exclusiva en receptores de trasplantes y en individuos con similar deterioro de la función inmune; nunca se ha podido verificar un caso de reactivación sintomática de una infección por EBV en una persona sana.

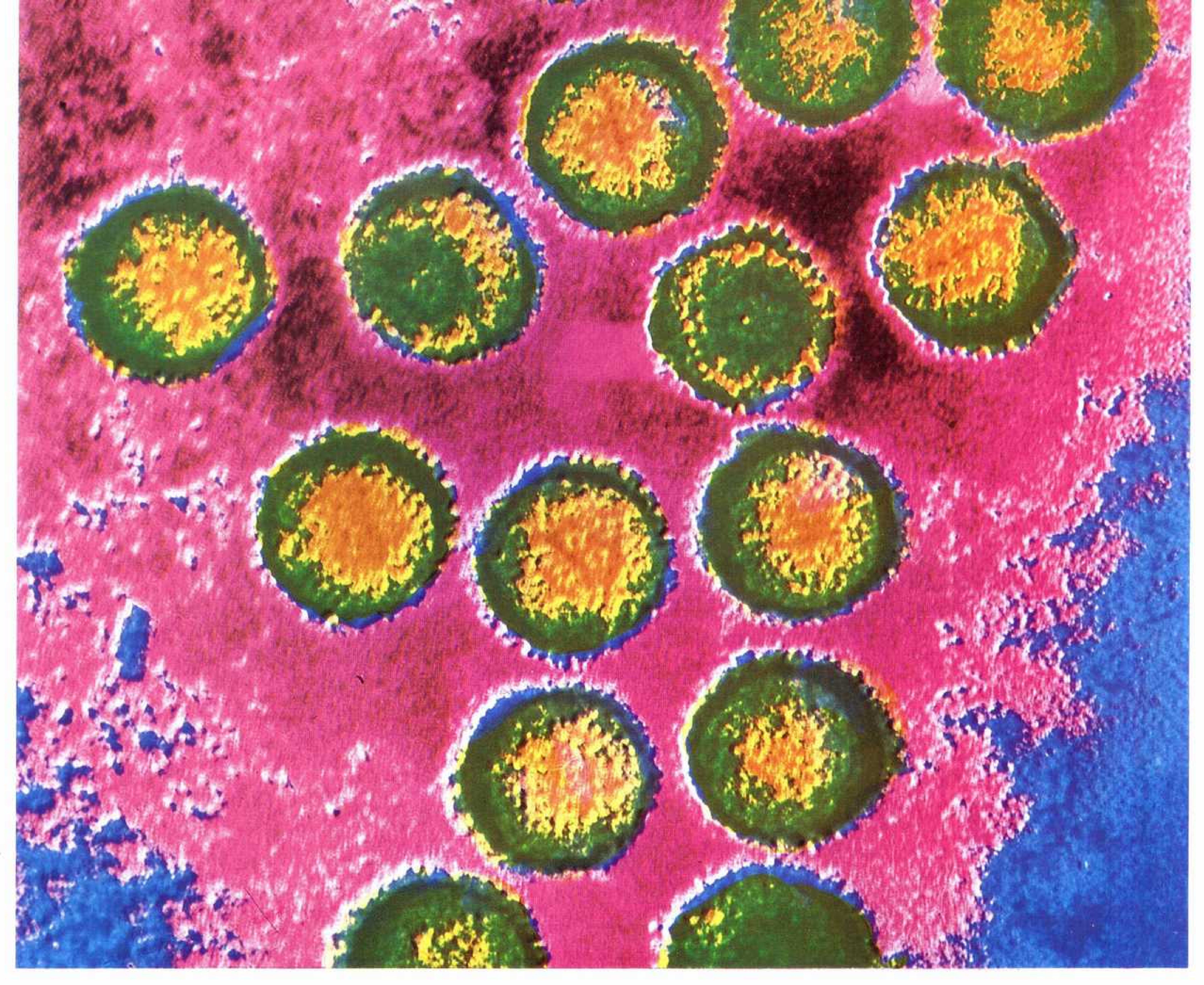
El síndrome clásico de la mononucleosis está definido por una tríada clínica de fiebre, faringitis y adenopatía, aunque puede acompañarse de otros síntomas y signos. El diagnóstico de la MI aguda está basado en la presentación clínica y en los correspondientes hallazgos de laboratorio; estos últimos incluyen una linfocitosis absoluta con más del 10 % de células atípicas y una titulación de anticuerpos heterólogos de por lo menos 1:56, obtenida por medio de la tradicional reacción de Paul-Bunnell o por la prueba del Mono-Látex. Alrededor de 93% de los pacientes que satisfacen estos criterios tienen una infección primaria por EBV.

Salvo raras excepciones, la MI es una enfermedad autolimitada. La adenopatía o la esplenomegalia pueden persistir durante semanas y provocar cierta ansiedad sobre sus causas, pero a no ser que los síntomas o los signos se agraven demasiado a lo largo del período de enfermedad aguda, no se debe intentar modificar su curso natural.

En la infección primaria por EBV, con los hallazgos propios de la MI o sin ellos, se reconocen varias complicaciones que se detallan en el cuadro.

Manejo de las infecciones por virus de Epstein-Barr

Infecciones no complicadas. Los pacientes con MI aguda no complicada sólo requieren tratamiento sintomático. Durante por lo menos 1 mes o hasta que se verifique la resolución de la esplenomegalia deben evitarse los deportes. Cuando la faringitis exudativa acom-



Microfotografía electrónica, con coloraciones artificiales, de partículas virales de Epstein-Barr. Este virus se asocia con el desarrollo de una enfermedad viral muy frecuente que es la mononucleosis.

paña a la mononucleosis, el porcentual de pacientes con cultivos positivos para el estreptococo β-hemolítico del grupo A varía ampliamente, desde 3% hasta 30%, y uno de cada tres de ellos tiene evidencias de una infección estreptocócica reciente. De manera concordante, el tratamiento del estreptococo β-hemolítico, con penicilinas, cefalosporinas o eritromicina durante 10 días, previene la aparición de las secuelas de esta infección. La ampicilina o la amoxicilina están contraindicadas en estos pacientes dado que con frecuencia ocasionan rash.

El uso de los corticoides en la MI es objeto de controversias. Los esteroides ayudan en la resolución de la fiebre y de la faringitis, pero no tienen efectos sobre las linfadenopatías o los trastornos esplénicos; por otra parte, influyen de manera adversa sobre la biología de la enfermedad viral y hay varios informes sobre la posible asociación entre corticoterapia y encefalitis o miocarditis. Todo esto desaconseja su aplicación como tratamiento de rutina.

Algunas drogas antivirales como el aciclovir, el ganciclovir, la bromovinildesoxiuridina, la zidovudina y el foscarnet; así como los interferones α, β y γ, inhiben de manera efectiva la replicación del EBV o la transformación de las células B por el virus, *in vitro*. Sólo la síntesis del DNA del EBV dependiente de la polimerasa viral (la forma lineal del genoma) es susceptible de inhibición; mientras que la forma circular latente del genoma, que se replica en relación con el ciclo celular utilizando la DNA-polimerasa del huésped, es inhibida no selectivamente. A partir de los trabajos realizados sobre el tema es posible aseverar que es nulo o escaso el beneficio obtenido al tratar a la mononucleosis infecciosa con antivirales.

Complicaciones. En las complicaciones de la MI por lo general se necesitan medidas adicionales de soporte como la traqueostomía, cuando hay obstrucción de las vías aéreas, o transfusiones, si se presenta anemia hemolítica o trombocitopenia. En algunos casos, los corticoides hacen innecesaria la traqueostomía ya que reducen la obstrucción laríngea.

Complicaciones de la MI	
Hematológicas	Anemia hemolítica Trombocitopenia Granulocitopenia Anemia aplásica Síndrome hemofagocítico
Neurológicas	Encefalitis Mielitis transversa Síndrome de Reye Síndrome de Guillain-Barré Psicosis Neuritis óptica
Cardíacas	Miocarditis Pericarditis
Respiratorias	Faringitis estreptocócica Obstrucción laringotonsilar Neumonía Pleuritis Linfadenopatía hiliar Neumonitis intersticial linfocítica Carcinoma nasofaríngeo
Dermatológicas	Rash asociado a ampicilina Vasculitis leucocitoclástica Acrocianosis Urticaria por frío Leucoplasia vellosa oral
Renales	Nefritis intersticial Glomerulonefritis
Hepáticas	Hepatitis Necrosis hepática masiva
Esplénicas	Ruptura
Inmunológicas	Anergia Hipogammaglobulinemia Hipergammaglobulinemia Síndromes linfoproliferativos ligados a X o no Linfomas de células T, de células B, de Burkitt y no-Hodgkin

Asimismo, la corticoterapia mejora la anemia hemolítica y la trombocitopenia autoinmunes. Por otra parte, como ya se mencionó antes, estas drogas deben utilizarse con precaución en los casos de encefalitis, miocarditis y pericarditis.

Progresión aguda de la enfermedad. El tratamiento de las infecciones fulminantes que se desarrollan en el marco de las deficiencias inmunes resulta frustrante. Los resultados de la experiencia general en pacientes con enfermedad linfoproliferativa ligada al cromosoma X indican que los antivirales y los corticoides no alteran la progresión explosiva de la infección primaria por EBV o sus secuelas. El interferón-γ y la combinación de interferón-α e inmunoglobulinas pueden proporcionar un beneficio transitorio a estos pacientes.

MI crónica. Resulta demasiado escasa la casuística y bastante dispares los resultados como para asegurar que el aciclovir o la prednisona proporcionan algún beneficio en el tratamiento de esta forma de la enfermedad. Tampoco se observó evidencia alguna de beneficio con la utilización de interferones α y γ o inmunoglobulinas intravenosas.

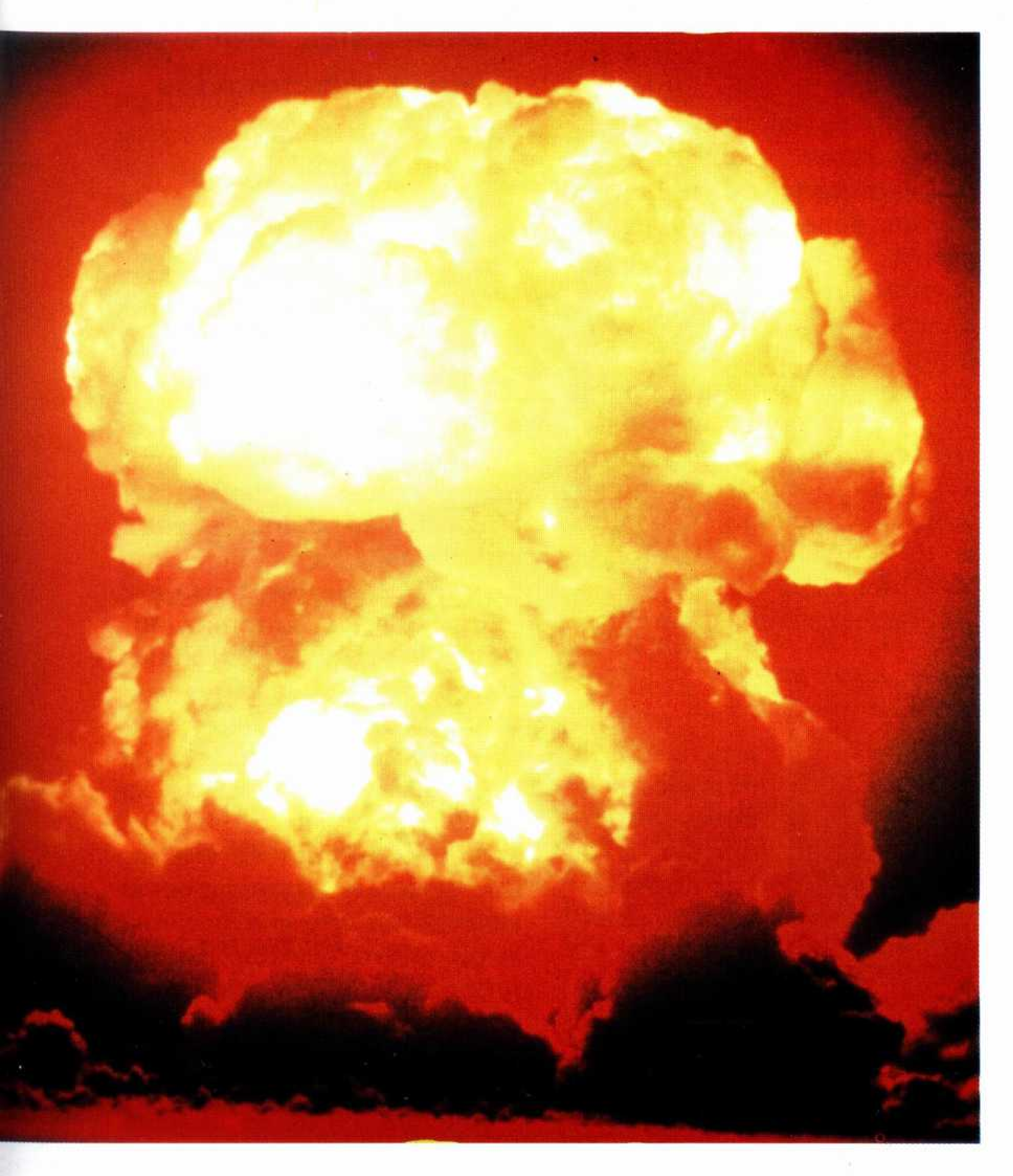
Trastornos asociados con infecciones por EBV. *Leucoplasia vellosa oral.* Esta lesión benigna, frecuente en pacientes infectados por HIV, tiene una sintomatología mínima y puede resolverse en forma espontánea. El aciclovir y el ganciclovir tienen un efecto favorable sobre las lesiones, las que pueden recidivar si se interrumpe el tratamiento.

Trastornos linfoproliferativos. Estos trastornos, que se producen en receptores de trasplantes de órganos sólidos o de médula ósea, constituyen un grupo problemático en el que las opciones terapéuticas con frecuencia son insatisfactorias y sus resultados indemostrables por estudios controlados. Es posible mejorar la función inmune mediante la suspensión o la reducción de la terapia inmunosupresora. Por otra parte, con la combinación de interferón-α e inmunoglobulinas intravenosas se verificaron remisiones de tumores monoclonales o policlonales. Un informe indicó que la infusión de anticuerpos anticélulas B puede ser promisoria en aquellos trastornos linfoproliferativos oligoclonales que no involucran al sistema nervioso central. Existen dudas sobre la utilidad del aciclovir en estos últimos tumores. En ciertos casos, su resección quirúrgica puede ser beneficiosa y en los tumores agresivos puede ser necesaria la terapia citotóxica, radiante o ambas.

Referencias

Annals of Internal Medicine
118 : 45-58, 1993.
Journal of Child Neurology
8 : 40-42, 1993.
The Lancet
341(8844) : 560-561, 1993.
Archives of Disease in Childhood
68 : 408-411, 1993.
Archives of Pathology & Laboratory Medicine
117 : 269-278, 1993.
Pharmacology & Therapeutics
56 : 79-95, 1993.
Leukemia
7 : 349-360, 1993.

El gran peligro para la estabilidad del genoma



Las radiaciones ionizantes, de origen cósmico o terrestre, y las ultravioletas, provenientes del sol, pueden ser causa de cáncer. ¿Cómo responden las células a estas agresiones?

En el mes de febrero de 1994 el diario *The New York Times* informaba que un submarino soviético, hundido ocho años antes en el Océano Atlántico, a una distancia aproximada de ochocientos kilómetros al este de las islas Bermudas, estaba dejando escapar radiactividad. Varios científicos opinaban que la fuga representaba una amenaza ecológica latente, tanto para la fauna marina como para los habitantes de las islas.

Lamentablemente, muchos de los conocimientos acerca de los fenómenos nocivos causados por la exposición a las radiaciones ionizantes tienen su origen en accidentes como el de este submarino —que transportaba reactores y torpedos con cabezas nucleares—, en errores o en negligencias. Sólo basta recordar unos pocos sucesos que integran las páginas más negras de la historia de la humanidad, como las bombas atómicas arrojadas en Hiroshima y Nagasaki sobre el final de la Segunda Guerra Mundial, o, más recientemente, el desastre de Chernobyl.

De acuerdo con el propósito con que se las emplee, las radiaciones pueden tener efectos beneficiosos o perjudiciales para la salud del hombre. Nadie desconoce la importancia de la radioterapia como herramienta terapéutica en oncología. Sin embargo, las radiaciones ionizantes o las

Una buena parte de la radiación que recibe un ser humano a lo largo de su vida proviene de fuentes naturales, incluidos los rayos cósmicos, los radioisótopos terrestres y el radón. De todas formas, los conocimientos acerca de los fenómenos nocivos tardíos causados por la exposición a las radiaciones ionizantes tienen su origen en accidentes, errores o negligencia.

ultravioletas pueden ser la causa, paradójicamente, de enfermedades neoplásicas.

La sensibilidad a las radiaciones ionizantes

Es muy difícil predecir los efectos de las radiaciones sobre un individuo en particular. La respuesta a las radiaciones ionizantes puede estar influida por muchos factores, lo que complica el cálculo de límites de seguridad e impide aplicarlos de manera generalizada.

Cuando un agente radiante afecta a una célula y daña su genoma aparecen en escena los sistemas enzimáticos de reparación del DNA. Si el daño genético no fue masivo y los sistemas de reparación funcionan en forma correcta, la lesión puede soportarse.

En el nivel celular, el papel crítico que desempeñan los sistemas de reparación del DNA los erige como el factor más importante —y más estudiado— para la valoración de la sensibilidad a las radiaciones.

Numerosos centros obtuvieron líneas celulares con deficiencias en la reparación del DNA, las cuales fueron de suma utilidad para identificar y clonar algunos genes relacionados. El primero en ser identificado fue el ERCC1, que codifica para una proteína nuclear de 297 aminoácidos y corrige los defectos de la reparación de ciertas líneas altamente sensibles a las radiaciones ultravioletas.

La búsqueda se extendió también a la pesquisa de individuos con deficiencias en la reparación del DNA y al aislamiento de los genes responsables, aunque esto último, a pesar de los esfuerzos, ha dado pocos frutos.

Las mutaciones hereditarias en los genes supresores de tumor también podrían aumentar el riesgo de cáncer inducido por radiaciones. En este sentido, es sabido que por efecto del gen supresor tumoral p53 y como consecuencia del desarrollo de daños en el DNA, las células pueden bloquear antes de la fase sintética (punto de control G_1/S) la progresión del ciclo celular. Si las alteraciones son irreparables, la célula muere. Este mecanismo evitaría la persistencia de linajes inestables con tendencia a la transformación neoplásica. En cambio, las células con mutaciones en el gen p53 admitirían daños severos en el genoma y se generarían poblaciones inestables, con una mayor capacidad para proliferar.

Algunos genes de mamíferos que pueden ser inducidos por las radiaciones ionizantes (RI) y ultravioletas (UV-A)

Gen	RI	UV-A
c-*fos*	SI	SI
c-*jun*	SI	
c-*myc*	SI	
c-H-*ras*	SI	
p53	SI	
α-interferón	SI	
Interleucina 1	SI	
Proteincinasa C	SI	SI
HIV-1		SI

La ataxia-telangiectasia

Hasta el presente la ataxia-telangiectasia es la única enfermedad del ser humano en la que se observa un aumento de la sensibilidad a las radiaciones respecto de la población general. Clínicamente esta entidad nosológica se caracteriza por presentar tres componentes: ataxia cerebelosa, telangiectasias oculocutáneas e inmunodeficiencia. A menudo los pacientes comienzan a manifestar los síntomas durante la infancia, los cuales consisten en infecciones crónicas de difícil manejo y muchas veces recidivantes, en especial de las vías aéreas. La ataxia, de origen cerebeloso, suele acompañar el cuadro infeccioso. Las alteraciones del sistema inmune se deberían a la hipoplasia del timo. En las pruebas de laboratorio es característico el hallazgo de una disminución de las células T periféricas.

Muchas veces se observa anergia cutánea y rechazo tardío de injertos de piel. Tampoco es raro encontrar bajos los niveles de las inmunoglobulinas E y A.

Como consecuencia de las deficiencias en la reparación del DNA, entre los pacientes

Después de la exposición a las radiaciones, muchos genes relacionados con la transformación neoplásica son inducidos.

con ataxia-telangiectasia se registra una elevada incidencia de tumores de estirpe linforreticular y a veces carcinomas. El defecto molecular responsable continúa siendo una incógnita, a pesar de los numerosos estudios efectuados. También se detectaron deficiencias en los receptores de las células T y en las inmunoglobulinas, lo que supondría alteraciones en la recombinación del DNA que se requiere para los rearreglos que preceden a la expresión de estos genes.

Mediante el empleo de un marcador denominado THY1 sobre individuos de las familias Amish, el defecto responsable de la ataxia-telangiectasia pudo localizarse en el cromosoma 11q. En época reciente se consideró como posible candidato el gen ATDC, localizado en una región teloméricа cercana a THY1. En teoría, la mutación involucrada debiera explicar todas las consecuencias clínicas de la enfermedad, por cierto muy variadas.

El gen ERCC1, que codifica para una proteína nuclear de 297 aminoácidos, corrige los defectos de reparación de ciertas líneas altamente sensibles a las radiaciones ultravioletas.

La inducción génica

Algunos fenómenos causados por las radiaciones podrían relacionarse con la inducción de determinados genes. En las bacterias, mecanismos de esta naturaleza participarían en la respuesta adaptativa a la agresión.

En células de organismos superiores, las radiaciones ultravioletas de tipo UV-A inducen la expresión de c-*fos*, HIV-1 y proteincinasa C, entre otros. Además, los genes RP-2 y RP-8, inducibles por el daño del DNA y aislados de timocitos irradiados, se asocian con la muerte celular programada o apoptosis.

Inventario de las mutagénesis por radiaciones

Las lesiones genómicas causadas por radiaciones ionizantes que se observan con mayor frecuencia son rupturas cromosómicas y alteraciones en la secuencia de bases nitrogenadas. En ambos casos la formación de radicales libres suele ser responsable de estas alteraciones. Por otra parte, las radiaciones en dosis altas pueden causar daños estructurales directos, que afectan la membrana celular o el citoplasma. De todos modos, el origen del efecto carcinogénico de las radiaciones hay que buscarlo, como es lógico, en las alteraciones del DNA, en particular en oncogenes dominantes como el *ras* y el *myc*.

F. Hutchinson, de la Universidad de Yale, considera que las mutaciones inducidas por las radiaciones ionizantes se clasifican en dos categorías: mutaciones puntuales, que afectan a secuencias del DNA (sustituciones de bases, pequeñas deleciones o inserciones) y grandes deleciones o aberraciones cromosómicas, que pueden identificarse mediante estudios citogenéticos.

Estudios en procariontes —en particular *Escherichia coli*— demostraron que las rupturas de ambas cadenas del DNA (*double-strand breaks*) pueden iniciar procesos reparadores que conducen a recombinación y rearreglos del material genético. En ciertas circunstancias estas alteraciones son mortales para las células.

Ante rupturas en una única cadena (*single-strand breaks*) o daño de bases, la reparación se efectúa por la intervención de enzimas. Allan Price, del Departamento de Radioterapia del Hospital Royal Marsden, de Londres, describió la dinámica del proceso. En las rupturas de una sola cadena intervienen de manera secuencial una 3'-fosfodiesterasa, una DNA polimerasa β y, finalmente, una DNA ligasa; las bases dañadas son escindidas por DNA glucosilasas, y reemplazadas por endonucleasas y DNA desoxirribofosfodiesterasas, mientras la reparación se completa por medio de polimerasas y ligasas.

En muchos casos las observaciones en bacterias se repiten en eucariontes, lo que permite establecer comparaciones con las células de mamíferos.

Referencias

Seminars in Cancer Biology
4(2): 61-71, 85-92, 93-104, 105-117, 119-128, 129-140, 1993.

Medical Mag
4(Esp.): 25-27, 1993.

Harrison, Principios de Medicina Interna, Editorial Interamericana/McGraw-Hill, 12va. Edición, 1991.

La adhesión celular y el proceso metastásico

Los distintos pasos de la invasión y metástasis tumoral requieren la intervención de moléculas de adhesión y receptores específicos. De su estudio podrían surgir nuevos agentes antiadhesivos con potencial utilidad terapéutica.

Desde hace algún tiempo, se sabe que el proceso por el cual una neoplasia crece, invade los tejidos circundantes y se disemina por el organismo depende, al menos en parte, de alteraciones en las interacciones celulares. En cambio, indagar en la trama íntima de este proceso y adjudicar un papel a cada molécula interviniente es una tarea extremadamente complicada, aunque no exenta de importancia para la comprensión del fenómeno biológico que determina el desarrollo de una enfermedad poco gobernable desde el punto de vista clínico.

Cuando se encuentran en forma soluble, los péptidos que contienen la secuencia RGD interfieren la adhesión celular por un mecanismo competitivo.

El proceso de invasión y metástasis tumoral puede sintetizarse en cinco pasos secuenciales. En el primero, sobre la masa primaria del tumor se organizan vasos sanguíneos nuevos (angiogénesis), que hacen posible la nutrición y el crecimiento de las células malignas. Luego, en el segundo paso, las células cancerosas se adhieren a las paredes vasculares neoformadas, en especial a componentes de las membranas basales como la laminina. Durante el tercer paso la liberación de enzimas proteolíticas permite a las células tumorales romper la arquitectura de las matrices extracelulares y membranas basales. Por último —pasos cuarto y quinto—, la célula cancerosa migra hacia los sitios secundarios de implantación y comienza a proliferar nuevamente.

Es evidente que la adhesión de las células entre sí (pertenezcan o no a la misma estirpe) y con distintos componentes del medio extracelular, adquiere un papel de gran jerarquía en la diseminación metastásica. Sin embargo, muchos procesos normales incluyen la adhesión y el tránsito de células de un compartimiento tisular a otro, sin por ello generarse "anarquías" ni "ectopias" celulares.

Analogías con el desarrollo embrionario

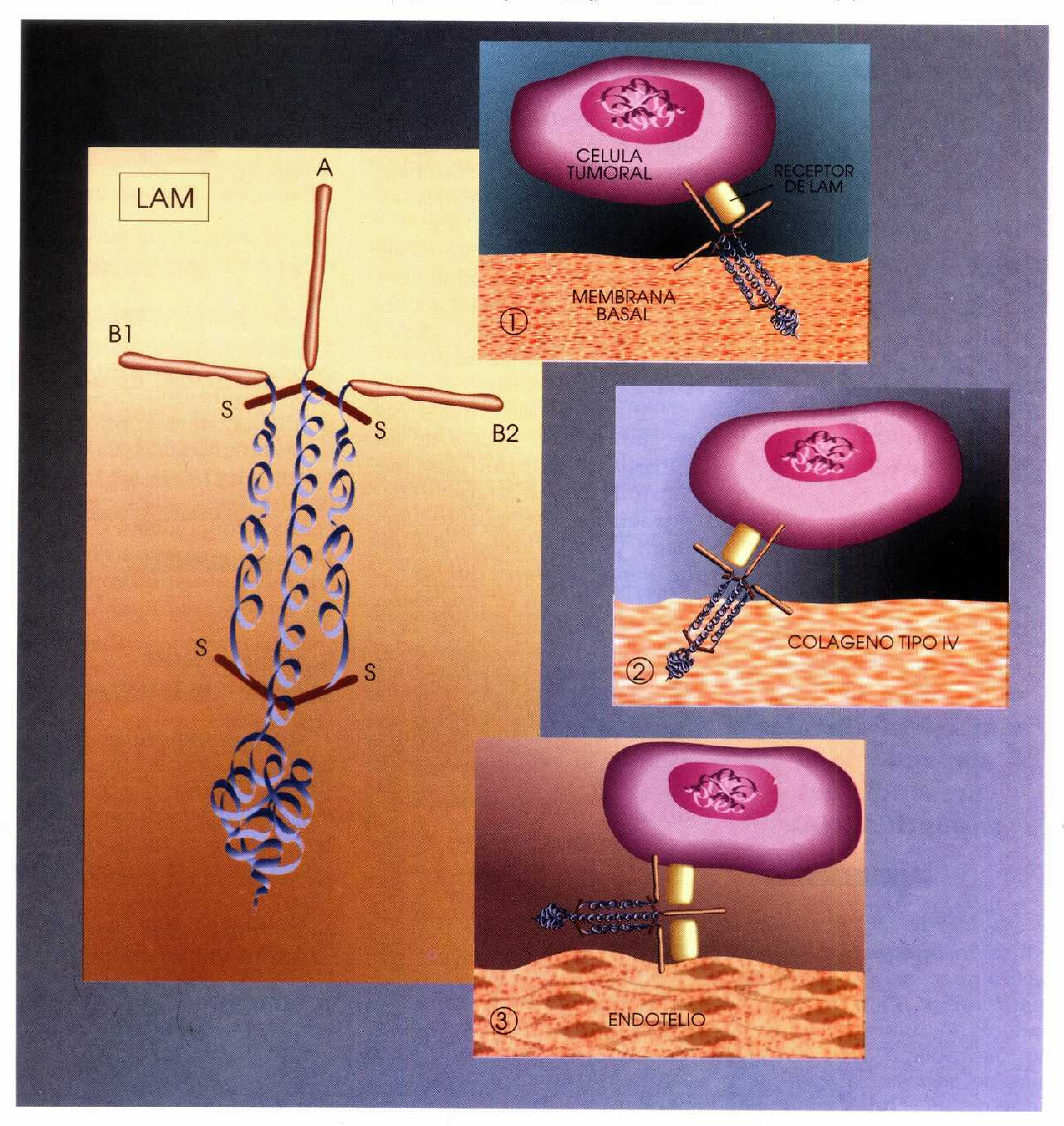
Al igual que las células cancerosas, también los leucoci-

Los fragmentos de oligosacáridos de las glucoproteínas de adhesión participarían en la nidación, en el pulmón, de las células metastásicas.

tos, los fibroblastos, las células endoteliales y las trofoblásticas pueden invadir tejidos sólidos. Además los leucocitos comparten con las células metastásicas la capacidad de atravesar las paredes de los vasos sanguíneos y linfáticos.

Durante el desarrollo embrionario tienen lugar mecanismos de tránsito celular que guardan ciertas semejanzas con el proceso de invasión y metástasis tumoral. Muchos acontecimientos normales de la morfogénesis, la citodiferenciación y la organogénesis pueden explicarse si se tiene en cuenta el papel desempeñado por la adhesión de las células a los distintos componentes de las matrices extracelulares. Las integrinas, receptores de

Representación esquemática de la estructura de la laminina, el componente más importante de las membranas basales. La laminina está compuesta por tres cadenas polipeptídicas, denominadas A, B1 y B2. Su disposición determina la estructura "en cruz" de la laminina. Durante la extravasación, los múltiples dominios permiten a las células con capacidad de originar metástasis a distancia —que poseen abundantes receptores específicos— establecer distintos contactos con componentes de las membranas basales, como la propia laminina (1), colágeno de tipo IV (2) y las células endoteliales (3).



transmembrana que reconocen a las proteínas de la matriz, participan como mediadores.

Durante el desarrollo, las células embrionarias migran sobre matrices en las que abunda la glucoproteína fibronectina, que actuaría a modo de soporte y guía para el recorrido. Por lo tanto, la expresión de integrinas en la superficie celular se relacionaría con el reconocimiento y la adhesión transitoria a estas proteínas de la matriz, como también con el reordenamiento del citoesqueleto y la migración.

En general, las células más diferenciadas muestran una expresión limitada de integrinas, mientras que en determinados períodos críticos del desarrollo embrionario ocurre lo contrario.

En las células cancerosas las integrinas poseen una distribución difusa, que coincide con la observada en las células embrionarias más activas.

Tal vez la invasión tumoral dependa de una expresión elevada de estas moléculas de adhesión, aunque en este caso se produce en un momento inadecuado. Algunos investigadores postulan mecanismos de "usurpación" de los sistemas de adhesión celular por parte de las células malignas, los cuales son normales cuando los emplean otros tipos celulares.

El reconocimiento de la fibronectina y de muchos otros componentes de la matriz extracelular depende de la presencia del tripéptido RGD.

El receptor de la laminina

La laminina es el componente glucoproteico más importante de las membranas basales. Entre los elementos presentes en la superficie celular que tienen la capacidad de unirse a ella, en varios tejidos se identificó un receptor de alta afinidad de 67 kDa que no pertenece a la familia de las integrinas. Además de entrar en contacto con la laminina, el receptor puede interactuar con otras moléculas de la matriz extracelular, como el colágeno de tipo IV —presente también en las membranas basales— y la elastina.

Los datos provenientes de estudios inmunohistoquímicos y de hibridación molecular demuestran que en los adenocarcinomas mamarios, colónicos, gástricos y cervicales del ser humano, los niveles del receptor de 67 kDa y de su correspondiente mRNA se hallan muy elevados. La sobreexpresión de este receptor formaría parte de la constelación de signos tisulares que se correlacionan con la progresión de la enfermedad. Por otra parte, este signo acompaña con predilección a las neoplasias glandulares, puesto que el receptor de 67 kDa no se sobreexpresa en carcinomas escamosos de la piel y el cuello uterino.

En las glucoproteínas los hidratos de carbono (oligosacáridos) se unen a la estructura polipeptídica en forma covalente; en muchos casos su presencia se relaciona con la función biológica de la glucoproteína. En general la incorporación de oligosacáridos se produce en el aparato de Golgi, luego de finalizada la traducción ribosómica.

Desde hace algunos años se sospecha que las alteraciones en los oligosacáridos que integran las moléculas de adhesión podrían ser responsables, al menos en forma parcial, de la expresión del fenotipo maligno.

Los péptidos que contienen la secuencia RGD pueden soportar la adhesión cuando se encuentran inmovilizados sobre una superficie.

La tunicamicina bloquea los pasos iniciales de la glucosidación de las proteínas y se informó que inhibe la nidación pulmonar de las células de melanoma. *In vitro* la tunicamicina torna a las células mucho menos adherentes a células endoteliales y a diferentes componentes de la matriz extracelular (fibronectina, colágeno y laminina).

Secuencias RGD y expectativas terapéuticas

Muchas moléculas involucradas en la adhesión celular tienen dominios específicos que son críticos durante la interacción con las integrinas presentes en la superficie de las células.

El principal sitio de unión de la fibronectina se localiza en el centro de la molécula y es reconocido principalmente por las integrinas $\alpha V\beta 1$, $\alpha V\beta 3$, $\alpha IIb\beta 3$ y $\alpha V\beta 5$. El tripéptido RGD (arginina-glicina-aspartato), incluido en la secuencia polipeptídi-

Posibles mecanismos por los cuales los péptidos solubles que contienen la secuencia RGD (arg-gly-asp) o LDV (leu-asp-val) interfieren la colonización metastásica

- ❑ Prevención de la agregación plaquetaria inducida por los émbolos de células tumorales
- ❑ Inhibición de la unión de las células tumorales al endotelio vascular
- ❑ Bloqueo de la migración celular durante la extravasación
- ❑ Bloqueo de la angiogénesis tumoral

ca, es la región clave en este reconocimiento.

Se sabe que los péptidos que contienen la secuencia RGD pueden soportar la adhesión cuando se encuentran inmovilizados sobre una superficie o sustrato. Sin embargo, en forma soluble se comportan de manera inversa ya que interfieren el mecanismo de adhesión celular por competencia. Sin lugar a dudas esta observación abre las puertas al desarrollo de agentes solubles que tengan la capacidad de interferir los fenómenos de adhesión y, de esta forma, bloquear la invasión de las matrices extracelulares por parte de las células tumorales.

La interacción de las células tumorales con la laminina desempeña un papel determinante en la invasión tisular y las metástasis.

En modelos animales, mediante el empleo de células de melanoma se demostró que el pentapéptido GRGDS inhibe la producción de metástasis experimentales. Esta acción se relaciona en forma inequívoca con sus propiedades antiadhesivas, puesto que distintos péptidos empleados como controles, que no contienen la secuencia RGD, carecen de la acción protectora contra el desarrollo de metástasis. Además, la albolabrina —un veneno de serpiente que contiene secuencias RGD— es un potente inhibidor de la adhesión y puede bloquear la formación de metástasis.

Las evidencias obtenidas en modelos experimentales avalan la hipótesis de que ciertos péptidos específicos se podrían emplear en el tratamiento de las enfermedades que incluyen, como rasgo característico, una perturbación en los mecanismos de adhesión celular.

Ante semejantes perspectivas, muchas compañías farmacéuticas se han lanzado a la producción de drogas antiadhesivas que tienen como prototipo la estructura de estos péptidos. Cuando, dentro de pocos años, estos nuevos agentes invadan el mercado, es posible que su primera aplicación clínica no incluya al tratamiento del cáncer. Otras patologías que se caracterizan por cambios en los patrones de la adhesión y migración celular, como algunas enfermedades inflamatorias y cardiovasculares, podrían constituir la primera línea para ensayar estas nuevas estrategias terapéuticas.

De todos modos, tarde o temprano los antiadhesivos serán evaluados en el área de la oncología. M. J. Humphries, del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Manchester, considera que hasta que llegue ese momento queda mucho por aprender sobre el papel de la adhesión celular en la biología del cáncer. La información que se obtenga en otras áreas de investigación biológica —coagulación sanguínea, tránsito de leucocitos, migración de las células embrionarias— podrían mejorar el conocimiento del proceso metastásico y ampliar aun más los horizontes terapéuticos.

Referencias

Seminars in Cancer Biology
4(5) : 269-276, 293-299, 311-317, 1993.
4(4) : 219-229, 231-239, 259-265, 1993.
Invasion & Metastasis
13 : 1-30, 1993.
Medical Mag
4(Esp.) : 7-9, 42-44, 1993.

Los pilares del tratamiento de la obesidad

Las dietas hipocalóricas y la actividad física programada, integradas dentro de un contexto multidisciplinario que incluya la modificación de la conducta y hábitos alimentarios, constituyen los pilares del tratamiento de la obesidad.

La obesidad y el sobrepeso son dos condiciones patológicas que se observan con mayor frecuencia en la práctica médica.

Si se define a la obesidad como el exceso de grasa corporal, caracterizar a un individuo como obeso puede resultar sencillo si ese exceso de tejido adiposo es muy notorio; sin embargo, cuando el exceso es moderado, llegar a un diagnóstico preciso se hace más complicado. Por empezar, una gran parte de la población se considera a sí misma obesa o con sobrepeso, lo cual aumenta la magnitud real de la afección. En realidad hay una necesidad estética de estar delgado, pues éste es el mandato que los arquetipos del éxito, promovidos por la cultura actual y de amplia aceptación social, ejercen sobre los individuos.

Podría señalarse que quienes tienen un sobrepeso que supera 30% del peso medio de una población tienen mayor riesgo estadístico de desarrollar trastornos asociados con la obesidad, que generan una mayor morbimortalidad.

Si se toma en cuenta el índice de masa corporal (IMC = peso/talla^2), una persona se considera obesa cuando éste es mayor de 27 en las mujeres o 28 en los hombres. Muchos individuos, compelidos por la tremenda maquinaria que mueve la "industria del adelgazamiento", solicitan un tratamiento para reducir su peso (aunque no lo necesiten en realidad), o se someten por sí mismos a programas dietéticos a menudo sin base científica y muchas veces riesgosos (como las numerosas dietas que se publicitan cuando comienza la primavera). No se puede negar que la obesidad es realmente un serio problema de salud pública. Si bien en nuestro medio hay registros estadísticos parciales, los datos parecen mostrar una tendencia similar a la de la población norteamericana. En los EE.UU., 32% de los hombres y 40% de las mujeres (rango etario 40-49 años) tienen un sobrepeso de, por lo menos, 20% con respecto a su peso deseable. Está comprobado que la obesidad puede asociarse con factores de riesgo metabólico como la diabetes tipo II, las dislipidemias, la hipertensión arterial, la aterosclerosis, las coronariopatías y ciertos procesos tumorales. Tampoco hay que olvidar la repercusión profundamente negativa que tiene la condición de ser "gordo" sobre la esfera psico-socio-cultural de un individuo. Por lo tanto, existen situaciones en las que el tratamiento de la obesidad es francamente necesario.

Cuándo y cómo tratar

Todavía no se pudo determinar en forma fehaciente si la obesidad es de por sí un factor independiente de riesgo y aumento de la morbimortalidad; por lo tanto, no existen criterios clínicos estrictos para indicar un tratamiento adelgazante. Sin embargo, existen ciertas condiciones en la que el tratamiento médico es absolutamente aconsejable. Por ejemplo:

Características de una dieta hipocalórica ideal

1. Cubre todas las necesidades nutricionales, excepto las energéticas
2. Es aceptable para los gustos y hábitos del paciente
3. Incorpora cambios en los hábitos de manera gradual
4. Lleva a una conducta alimentaria adecuada
5. Es socialmente aceptable
6. Mejora el bienestar general del paciente
7. Se plantea objetivos alcanzables de descenso ponderal

1. Cuando es un factor de riesgo comprobado: en pacientes con diabetes insulino independiente, hipertensión arterial o dislipidemias; hombres menores de 40 años con un IMC mayor de 30; pacientes con obesidades extremas (IMC mayor de 42).

2. Cuando el sobrepeso supera 30% del peso medio de una población.

3. Cuando el sobrepeso (aunque no sea tan marcado) se asocia con trastornos osteoarticulares, venosos, litiasis vesicular o renal, provoca incapacidad física o repercute en forma negativa en la esfera psicológica del individuo.

4. La obesidad en etapas fisiológicas especiales, como la infancia o el embarazo, requieren una cuidadosa evaluación y enfoques especiales del tratamiento.

Con criterio terapéutico, se puede hablar de un primer grupo de pacientes con sobrepeso pero con IMC menores de 27-28, en los cuales el tratamiento es opcional. Otro grupo de obesos cuyo IMC oscila entre 27-28 y 40, en los que hay una plena indicación de tratamiento médico, y por último, un grupo de muy obesos con un IMC mayor de 40, en los que el tratamiento es imprescindible, pero también muy dificultoso.

Aún no se cuenta con un tratamiento médico de la obesidad que pueda considerarse "curativo" y eficaz a largo plazo en la mayor parte de los pacientes. Sin embargo, hay elementos como para realizar un enfoque integrador y holístico de la terapéutica de la obesidad. Los pilares del tratamiento de esta enfermedad son la prescripción de una dieta hipocalórica y un incremento de la actividad física, con el objetivo de provocar un equilibrio energético negativo que obligue al consumo de las calorías almacenadas en los triglicéridos de depósito del tejido adiposo. El equilibrio calórico no puede plantearse como una simple suma algebraica, ya que depende de diversos factores individuales, como el gasto metabólico basal, la termogénesis adaptativa, etc.; pero el modo más eficaz de lograrlo es recurrir a una disminución de la ingestión calórica y a un mayor gasto energético por medio del ejercicio físico.

Idealmente esto debiera incluirse dentro de un programa conductal de modificación de los hábitos alimentarios, para reemplazarlos por hábitos nuevos que se transformen en permanentes. La farmacoterapia debe manejarse con criterio estricto y cuidadoso. El continuo avance de la tecnología de los alimentos permite que en la actualidad estén disponibles productos denominados "nutracéuticos", que pueden ser un recurso de gran utilidad.

Por regla general tienen un alto contenido en fibras que, entre otras propiedades benéficas, dan sensación de saciedad por demorar la evacuación gástrica.

Las dietas hipocalóricas

La dieta hipocalórica o de bajo valor calórico (VBC) ideal puede definirse como la que carece de efectos indeseables y es inferior a los requerimientos calóricos del individuo, lo que permite una disminución de los depósitos grasos del organismo.

Se han preconizado numerosas dietas para el tratamiento de la obesidad, muchas de las cuales carecen de fundamento científico, son desequilibradas o prometen utópicos y acelerados descensos de peso y pueden conducir a la desnutrición. En conjunto, pueden considerarse como "dietas no armónicas" y son absolutamente desaconsejables (dieta macrobiótica, hipoproteica, hiperproteica, disociada, etc.).

Dentro de las dietas de BVC, la dieta mixta hipocalórica tiene un valor calórico total (VCT) que oscila entre 800 y 1.300 calorías, la cual guarda una relación armónica entre la proporción de los nutrientes (hidratos de carbono, proteínas y grasas). Esta dieta permite modificar en forma paulatina la conducta alimentaria del paciente, no tiene efectos colaterales importantes, y aporta cantidades suficientes de macronutrientes, vitaminas, minerales y fibras. Es la dieta más empleada para el tratamiento de la obesidad; pero antes de prescribirla se debe hacer una adecuada evaluación nutricional del paciente para que el plan de alimentación sea estrictamente personalizado. La fórmula calórica aproximada es de 50% de hidratos de carbono, 20% de

proteínas y 30% de grasas. Se debe proscribir el alcohol; en muchos casos esta sola medida puede hacer descender en forma drástica el VCT consumido por el paciente. En las dietas de BVC mixtas, variadas y que superan las 800 calorías, es poco probable que el aporte de vitaminas y minerales sea insuficiente. La dieta se debe fraccionar al menos en cuatro comidas principales y dos colaciones, con la indicación de listas de reemplazo de alimentos que evitarán la monotonía y favorecerán el cumplimiento por el paciente. Como parte integrante del cambio de hábitos se le debe informar la composición y calorías aproximadas de los distintos alimentos, así como la cantidad y el peso de las porciones.

Las dietas de muy bajo valor calórico (DMBVC) tienen un VCT que oscila entre las 500 y 800 calorías. Son dietas de aplicación restringida a situaciones especiales y por períodos determinados. La tendencia general es reservar su prescripción para los casos de obesidades masivas, extremas o mórbidas, obesos que no responden a las dietas de BVC, o pacientes que presentan un sobrepeso significativo y requieren un descenso ponderal acelerado por diferentes causas (hipertensión, cardiopatías, cirugía programada, alteraciones por traumatismos, etc). Las dietas de MBVC provocan una pérdida rápida de peso, conservan la masa magra, y aportan proteínas, o bien proteínas y una escasa cantidad de hidratos de carbono y grasas. Estas dietas comprenden las constituidas por alimentos naturales, las de proteínas líquidas, las "de fórmula" o elementales y también puede incluirse dentro de este grupo la dieta acalórica o ayuno terapéutico. Se han propuesto distintas dietas de MBVC que se diferencian en cuanto a la composición porcentual de hidratos de carbono, proteínas y grasas, y pueden carecer de algún principio nutritivo.

Quienes preconizan el agregado de hidratos de carbono a estas dietas sostienen que los glúcidos tienen un efecto ahorrador de proteínas, con conservación de la masa magra, y menor aumento de la uricemia y de la pérdida de electrólitos. Estas dietas deben ser suplementadas con complejos polivitamínicos, de lo contrario pueden ocurrir carencias.

Algunas de las dietas de MBVC se presentan en forma de polvos ya formulados, que, disueltos en agua o leche descremada, reemplazan la comida convencional. En su composición química predominan las proteínas de alto valor biológico, a las que se agregan hidratos de carbono y fibras solubles, muy escasa cantidad de lípidos, vitaminas y minerales. Estas fórmulas proveen cantidades exactamente medidas de alimento y al parecer aumentan la adhesión de los pacientes ya que se evitan las comidas tradicionales. Por otra parte, al incluir vitaminas y minerales evitan que el paciente tenga que recordar la toma de los suplementos farmacológicos.

Estas dietas llevan a descensos ponderales impactantes (por ejemplo, 20 kg en 12 semanas), mejoran el metabolismo glucídico, reducen las cifras de tensión arterial y los niveles plasmáticos de lípidos, sobre todo de colesterol LDL (aunque también descienden las cifras de colesterol HDL); pero deben ser realizadas bajo la supervisión cercana de un profesional y tener una duración limitada, ya que se han registrado efectos adversos (a veces realmente serios como arritmias cardíacas o incluso muerte súbita) en particular cuando la dieta se prolonga más allá del período considerado como margen de seguridad, que se estima entre 1 y 2 meses. Por otra parte, existen estudios que señalan que el espectacular descenso ponderal puede revertirse con un rápido ascenso rebote si el paciente no modifica su estilo de vida; sin duda la práctica clínica diaria corrobora estos hallazgos. En cambio, también existen datos epidemiológicos que señalan que cuando la dieta de MBVC se prescribe dentro de un programa que

Régimen tipo de aproximadamente 1.000 calorías

Alimentos	Cantidad
Leche descremada	100g
Queso descremado	50g
Carne	150g
Veg."A"	300g
Veg."B"	300g
Frutas	300g
Pan integral	40g
Aceite	20g

Efectos beneficiosos de la actividad física programada

- Mejora la circulación cardíaca
- Disminuye la presión arterial
- Aumenta la capacidad vital
- Aumenta el tamaño y la fuerza muscular
- Disminuye los depósitos grasos corporales
- Disminuye el colesterol y los triglicéridos plasmáticos
- Aumenta las HDL
- Mejora el metabolismo hidrocarbonado
- Mejora la autoestima y la relación con el propio cuerpo
- Modera el apetito
- Mejora las relaciones interpersonales

modifique el comportamiento del paciente, es posible que éste no recupere los muchos kilos perdidos. Los principales componentes de un programa de modificación del estilo de vida son la educación sobre hábitos alimentarios, la modificación de los patrones y cantidades de la ingestión, el entrenamiento en el automonitoreo y una actividad aerobiótica programada, para incrementar el gasto de energía.

La actividad física

Además de su innegable y beneficiosa repercusión sobre el bienestar y la calidad de vida de un individuo, los ejercicios físicos programados cuentan en la actualidad con la jerarquización de ser considerados como eficaces armas terapéuticas para el tratamiento de distintas enfermedades; entre ellas, ocupa un lugar destacado la obesidad. Hay consenso generalizado acerca de aconsejar y alentar la práctica de una actividad física reglada y segura, mientras se está siguiendo una dieta de VBC; pero por los muchos beneficios que puede aportar, el objetivo último es que el paciente incorpore el ejercicio como parte integrante de su estilo de vida. Por supuesto, éste no es, en absoluto, un objetivo sencillo de alcanzar.

La práctica del ejercicio físico en forma regular genera una serie de cambios metabólicos, hormonales y neurológicos que llevan a un aumento de la sensibilidad periférica a la insulina, mejoran la tolerancia a la sobrecarga de glúcidos, aumenta la actividad lipolítica del adipocito (al movilizar en forma continua triglicéridos de depósito) y hacen descender la tensión arterial. Además, la actividad física induce un equilibrio energético negativo en forma directa o por aumento del efecto termogénico de los alimentos, debido a que incrementa la tasa metabólica basal; también modera y modifica la ingestión, de manera que reduce el apetito por lo menos en sus características de "voracidad". El entrenamiento físico repercute de manera favorable en la mayoría de las condiciones clínicas asociadas con la obesidad (mejora la circulación miocárdica, aumenta la capacidad vital y la fuerza muscular, mejora la autoestima, la relación con el propio cuerpo y brinda sensación de bienestar general). Cuando se trata de obesos mórbidos, en quienes el estado cardiovascular suele estar muy comprometido, el ejercicio se deberá indicar con prudencia y en forma que se adecue a las posibilidades iniciales del paciente, pero también en estos casos se pueden obtener grandes beneficios.

Entre otros parámetros, la efectividad del ejercicio en la pérdida de peso puede estar influenciada por el tipo, la intensidad, la frecuencia y la duración de cada sesión y por el programa de entrenamiento. Como simple orientación, se aconseja la práctica de una actividad aerobia de intensidad moderada (como las caminatas o la marcha) durante por lo menos 15 minutos, 3 veces por semana. La actividad física no es popular entre la mayoría de la población de obesos. No obstante, es un pilar insoslayable en un programa de tratamiento del sobrepeso y la obesidad, a mediano y largo plazo. Es necesario motivar al paciente, instrumentar técnicas de modificación de su conducta y tratar de organizar un trabajo grupal para aumentar la adhesión al programa.

No obstante, la dieta y el ejercicio por sí solos no son eficaces para el tratamiento de la obesidad; es su aplicación combinada la que puede llevar al éxito terapéutico.

Referencias

American Journal of Medicine
95(2) : 131-140, 1993.
American Journal of Clinical Nutrition
57(2) :127-134, 1993.
57(1) : 20-26, 1993.
56(Supl. 1) : 199s-202s, 1992.

Prevenir lo prevenible

Los factores de riesgo de desarrollar cáncer mamario y los factores predictores de recurrencias facilitan la detección primaria del tumor y sus recidivas.

El papel de los factores hormonales en el desarrollo del cáncer mamario se pone de manifiesto por la protección que brinda el ingreso en la menopausia. En cambio, en términos biológicos el embarazo podría poner en juego influencias opuestas, como inducir la diferenciación de las células mamarias, lo cual disminuye el número de las que pueden ser blanco de fenómenos de carcinogénesis y, como contrapartida, aceleraría el crecimiento de los cánceres ocultos.

En los años 60 se identificó a la edad del primer embarazo de término (*first full-term pregnancy*) como la principal variable reproductiva relacionada con el cáncer mamario. El embarazo ejerce cierto efecto protector contra la génesis de neoplasias de la glándula mamaria; las mujeres con mayor riesgo son las que completaron su primer embarazo en una edad avanzada y, lógicamente, las que tuvieron un escaso número de embarazos. Kalache y col. también sugirieron que la edad en el último embarazo de término podría tener un gran peso en el riesgo de cáncer mamario.

La edad al comienzo del primer embarazo de término es la principal variable reproductiva relacionada con el riesgo para cáncer mamario.

Muchas observaciones como éstas, provenientes de estudios epidemiológicos, permiten configurar una guía práctica para la pesquisa de pacientes de alto riesgo y efectuar un seguimiento con particular atención.

En fecha reciente, un grupo de la Escuela de Medicina de la Universidad de California, EE.UU., publicó un estudio prospectivo efectuado a lo largo de diez años sobre mujeres con diagnóstico previo de enfermedad mamaria benigna. Este trabajo permitió aclarar y profundizar aspectos relacionados con la influencia de varios factores que gravitan en el desarrollo del cáncer de mama, incluidas la historia familiar, la menopausia y antecedentes de esta misma neoplasia.

Quedó confirmado que el riesgo de desarrollar cáncer mamario aumenta en forma significativa en mujeres con antecedente de enfermedad proliferativa benigna e imágenes celulares atípicas. La ausencia de atipia en el diagnóstico previo disminuye de manera notable este riesgo. Además, las mujeres que las presentaban tenían un riesgo mayor si eran premenopáusicas.

Como sucede en muchos cánceres —en especial en el blastoma de ovario— los antecedentes familiares constituyen un importante factor de

Marcadores de pronóstico en el cáncer de mama
(Adaptado de JNCI 84:301-305, 1992)

Marcadores tradicionales	*Potenciales marcadores*
✓ *Status* ganglionar	✓ Enzimas (Catepsina D, activador del plasminógeno tipo uroquinasa)
✓ Tamaño tumoral	✓ Fracción celular en fase S
✓ Receptores estrogénicos	✓ Expresión de HER2/neu
	✓ Expresión de nm23
	✓ Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF, *epidermal growth factor*)

No es posible asegurar en todos los casos que el estado ganglionar permite predecir con exactitud la respuesta al tratamiento.

riesgo de aparición del mismo tumor. Este riesgo se potencia al sumarse los que aportan las patologías benignas previas.

Un considerable porcentaje de tumores de mama operables revela, a lo largo del seguimiento, una alta probabilidad de recurrencia si no reciben terapia coadyuvante. En la actualidad hay un particular interés en desarrollar nuevos protocolos de coadyuvancia para el tratamiento temprano del cáncer, en especial cuando se sospechan recidivas. Por lo tanto, en el cáncer de mama, la identificación de marcadores de pronóstico y seguimiento es primordial. Los indicadores de pronóstico de casos con elevada tendencia a recurrir —o sea los que informan sobre la evolución natural de la enfermedad— integran una larga lista de gran utilidad en el cáncer mamario. Entre todos ellos, no se pueden dejar de mencionar el tamaño del tumor primario, el número de receptores estrogénicos, el diagnóstico histológico y el grado de invasión de los ganglios axilares. El estado ganglionar se considera el indicador de pronóstico más importante en los primeros estadios del cáncer de mama. Se correlaciona muy bien con la supervivencia y con la duración del intervalo libre de enfermedad luego de instituido el tratamiento. Sobre esta base, las pacientes pueden clasificarse en dos grupos bien diferenciados: sin invasión de los ganglios axilares, con bajo riesgo y buen pronóstico, y con compromiso axilar. Algunos autores consideran de alto riesgo a las pacientes con diez o más ganglios invadidos. Sin embargo, no es posible asegurar que el estado ganglionar permite predecir con exactitud la respuesta al tratamiento quimioterápico o la posibilidad de recidivas; para ello el único indicador confiable es la presencia de receptores estrogénicos, que augura éxitos para la coadyuvancia con tamoxifeno.

El antecedente de enfermedades benignas de la mama, sin atipias celulares, implica un riesgo relativamente bajo.

En los últimos tiempos, debido a los avances en la biotecnología y en los estudios sobre modelos experimentales de cáncer, se incorporaron nuevos biomarcadores con posible utilidad pronóstica para el cáncer de mama. Su aplicación como rutina en los laboratorios tradicionales todavía es dificultosa y a veces imposible. Además estos biomarcadores en muchos casos agregan muy poca información prospectiva a la que se obtiene con los marcadores clásicos, en particular el estado ganglionar.

No obstante, algunos nuevos biomarcadores relacionados con la biología de la invasión metastásica, como muchas enzimas proteolíticas, parecen ser promisorios. Tal es el caso de la catepsina D y el activador del plasminógeno tipo urocinasa, que se sobreexpresan como parte del fenotipo agresivo e invasor de las células malignas.

Referencias
The Lancet
341: 25-26, 32-35, 1993.
JAMA
267: 941-944, 1992.
The Journal of the National Cancer Institute
84: 301-305, 1992.
83: 154-155, 1991.
The British Medical Journal
304: 687-691, 1992.